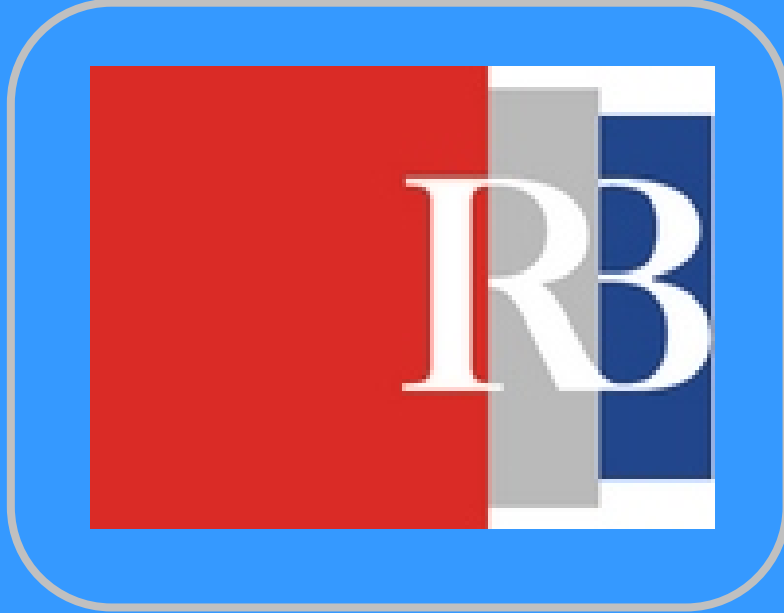


KOLIKA JE OPASNOST OD AMNEZIJSKOG TROVANJA ZA VRIJEME CVJETANJA DIJATOMEJA IZ RODA *PSEUDO-NITZSCHIA* U SJEVERNOM JADRANU?



MORE IS MORE

D. Marić i J. Godrijan

Centar za istraživanje mora, Institut Ruđer Bošković

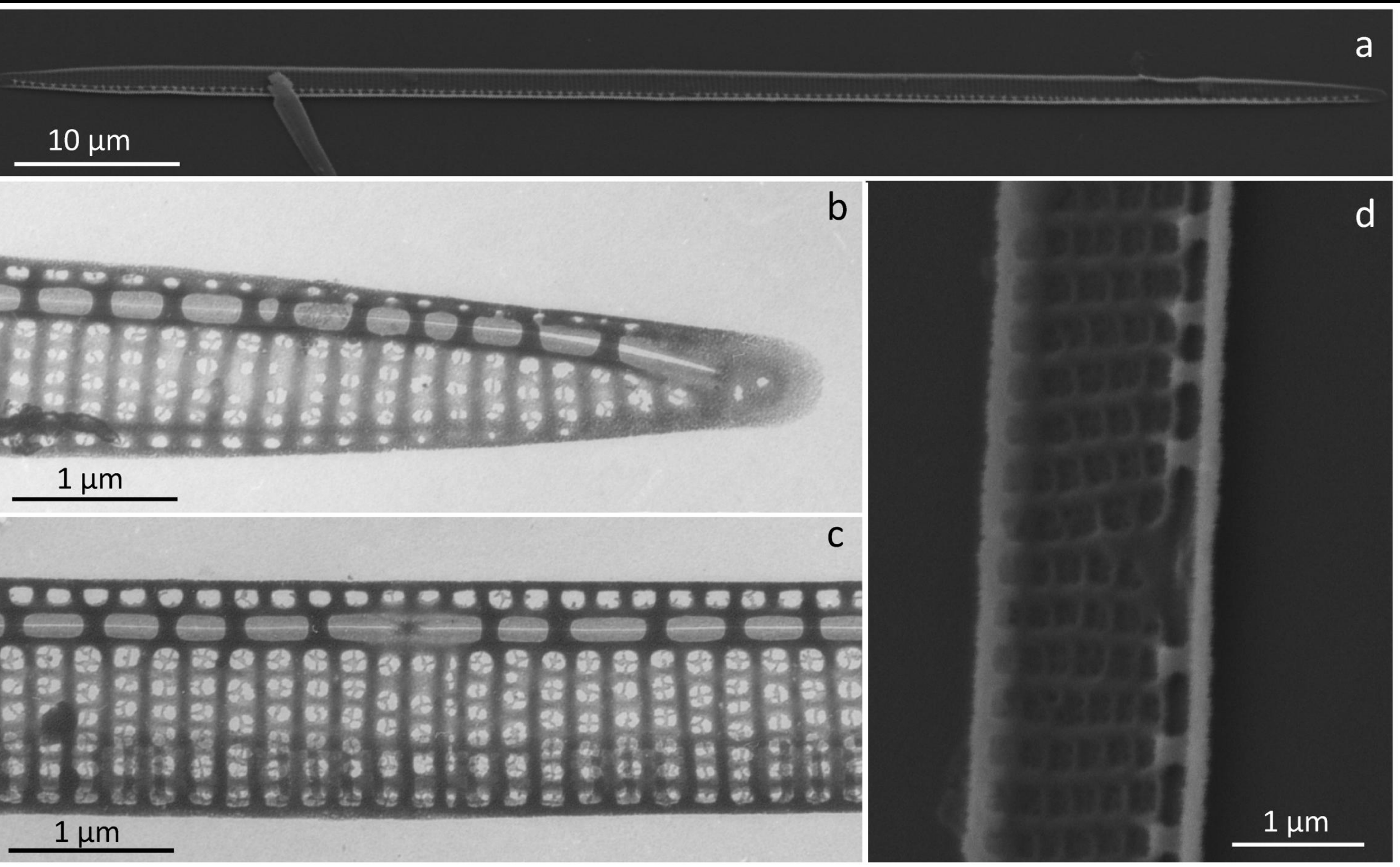
Pseudo-nitzschia je rod dijatomeja od globalnog značenja pronađen u gotovo u svim morskim i estuarijskim ekosustavima. Trenutno su poznate 32 vrste ovog roda, a 12 vrsta ima mogućnost sinteze domoične kiseline. Domoična kiselina je neurotoksin koji se akumulira u školjkašima-filtratornim organizmima, a pronađena je i u tkivima životinja viših trofičkih razina kao što su morski sisavci i ptice. Trovanje domoičnom kiselinom naziva se amnezijско trovanje školjkašima (Amnesic Shellfish Poisoning- ASP). Neurotoksično djelovanje u ljudi pojavljuje se kao glavobolja, smetenost i gubitak pamćenja. Trajno se oštećuju neuroni u hipotalamusu i amigdalnom području zbog pretjeranog podražaja neurona, a trovanje može završiti smrću.

Iako je poznato da rod *Pseudo-nitzschia* dominira među ostalim planktonskim dijatomejama Jadrana, stvarni sastav vrsta, njihova sukcesija te prostorna i vremenska dinamika još uvijek nisu u potpunosti poznate. U ovom radu određene su ekološke i taksonomske značajke vrsta, te korelacije s ostalim okolišnim parametrima (Tablica 1). *Pseudo-nitzschia* je prisutna u sj. Jadranu tijekom čitave godine, a često dostiže visoku brojnost. Najzastupljenije potencijalno toksične vrste su: *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (slika 1), *P. calliantha* (slika 2,3) i *P. pungens* (slika 4). Za vrijeme cvjetanja vrste *P. calliantha* (1.2·10⁶ stanica po litri) 2007 u obalnim vodama sj. Jadrana izmjerena domoična kiselina kretala se od 0.11 do 1.32 µg/g u tkivu komercijalnih vrsta školjkaša (slika 5, 6).

Budući da su nedavna istraživanja (Marić i sur. 2011, Ljubešić i sur. 2011) potvrdila postojanje domoične kiseline u sj. Jadranu postavlja se pitanje: uolikoj smo opasnosti za vrijeme cvjetanja ovog roda?

Tablica 1. Statističke korelacije abiotičkih čimbenika s brojnosti toksične *P. callianthe* u vrijeme cvjetanja 2007 kada je izmjerena domoična kiselina u školjkašima sjevernog Jadrana. Značajne korelacije su podebljane (p<0.05).

Complete dataset	Temp.	Salin.	NO ₃	NO ₂	NH ₄	TIN	Silica	Phosph	Oxygen	pH
	[°C]	[PSU]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	[µmol l ⁻¹]	
Minimum	9	22.31	0.58	0.01	0.01	0.66	0.01	n.d.	2.04	7.96
Maximum	28.16	38.37	19.51	3.72	3.43	20.58	28.29	0.56	10.05	8.54
Arithmetic Mean	16.792	37.67	1.922	0.308	0.265	2.464	3.367	0.037	5.158	7.773
STD	4.709	1.038	1.825	0.45	0.427	2.095	3.672	0.066	1.417	1.865
Spearman correlations <i>P. calliantha</i>	0.2	-0.292	0.035	-0.051	-0.078	-0.007	-0.031	0.117	-0.113	0.175



Slika 1. *P. pseudodelicatissima* na SEM-u(a,d) i TEM-u (b,c). Valva jedne stanice (a), detalji valve sa središnjom porom (b, c) i strukturom pora.

LITERATURA:

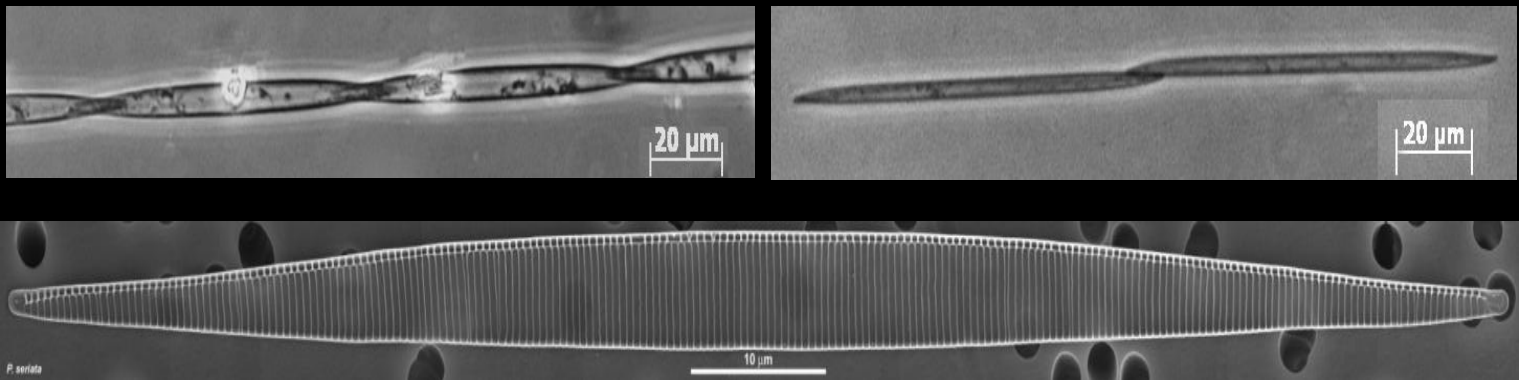
1. Marić, D., Ljubešić, Z., Godrijan, J., Ujević, I., Viličić, D., Precali, R., 2011. Blooms of the potentially toxic diatom *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle in coastal waters of the northern Adriatic Sea (Croatia). Estuarine, Coastal and Shelf Science 92, 323-331.

2. Ljubešić, Z., Bosak, S., Viličić, D., Kralj Borojević, K., Marić, D., Godrijan, J., Ujević, I., Peharec, P., 2011. Ecology and taxonomy of potentially toxic *Pseudo-nitzschia* species in Lim Bay (north-eastern Adriatic Sea). Harmful Algae, in press.

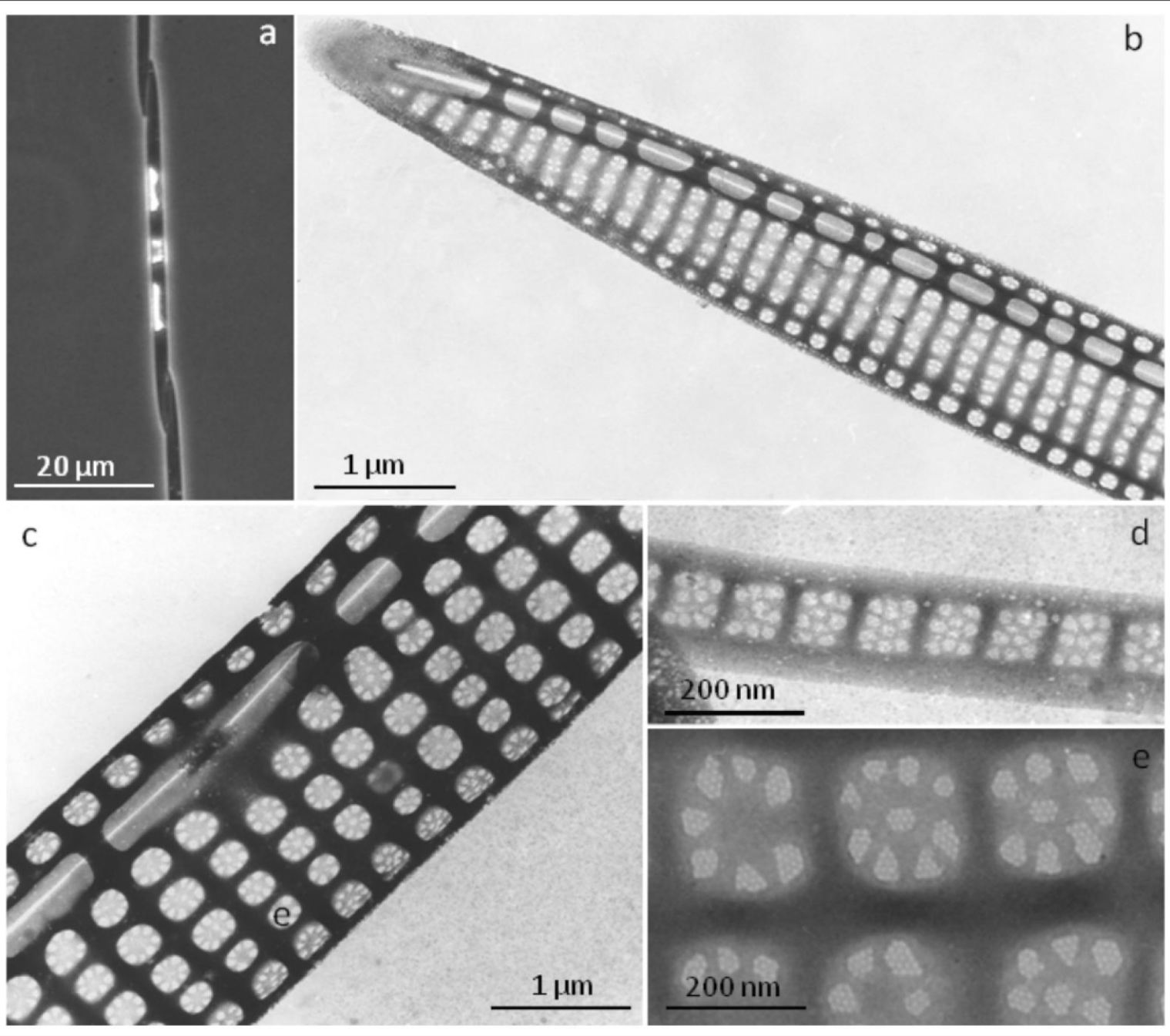
3. Quilliam, M.A., Xie, M., Hardstoff, W.R., 1995. Rapid extraction and cleanup for liquid chromatographic determination of domoic acid in unsalted seafood. Journal AOAC International 78 (2), 543-554.

4. Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkommenung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitteilungen der Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie 9, 1-38.

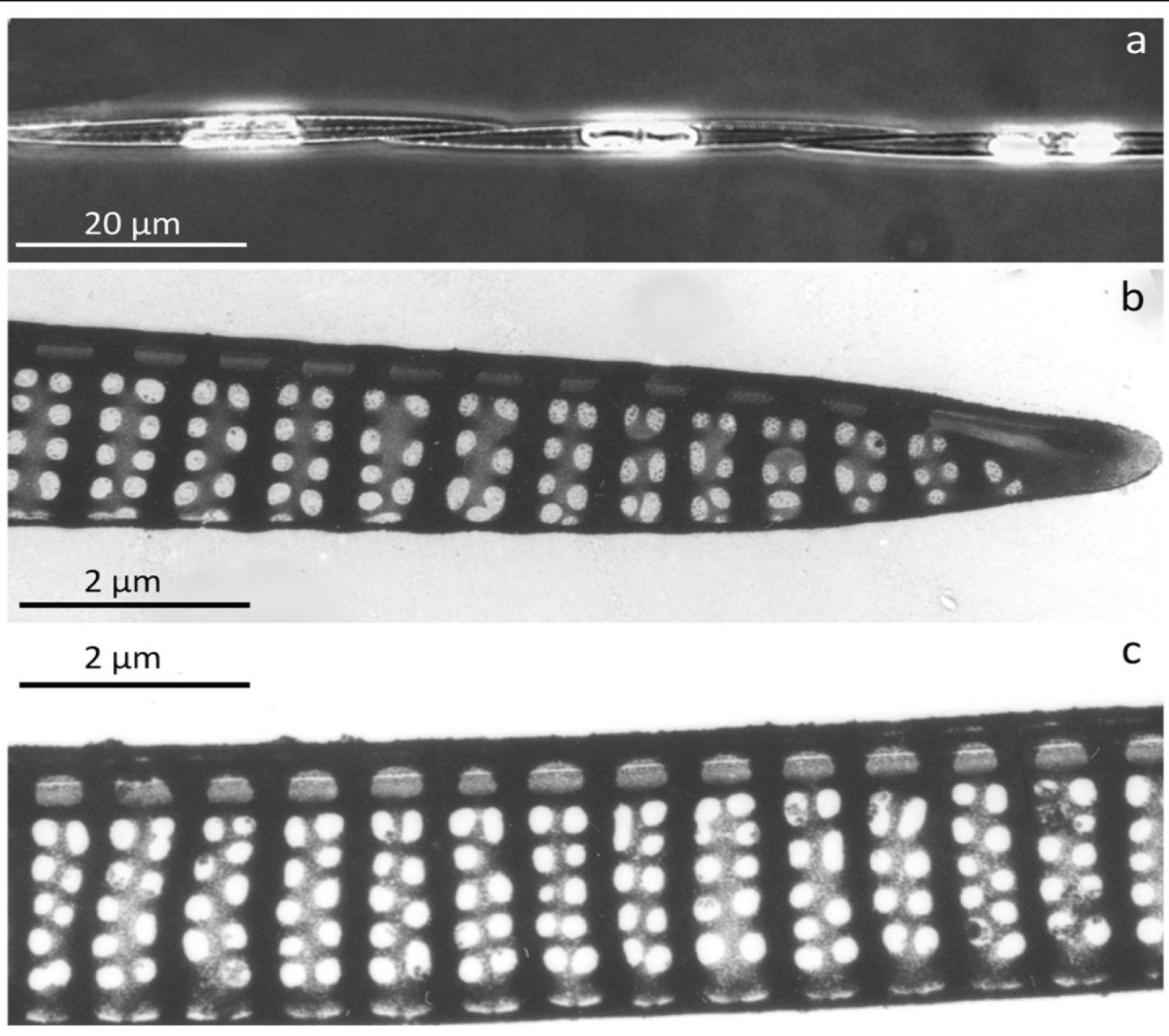
5. Lundholm, N., Moestrup, Ø., Hasle, G.R., Hoef-Emden, K., 2003. A study of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima/curvata* complex (Bacillariophyceae): what is *P. pseudodelicatissima*? Journal of Phycology 39, 797-813.



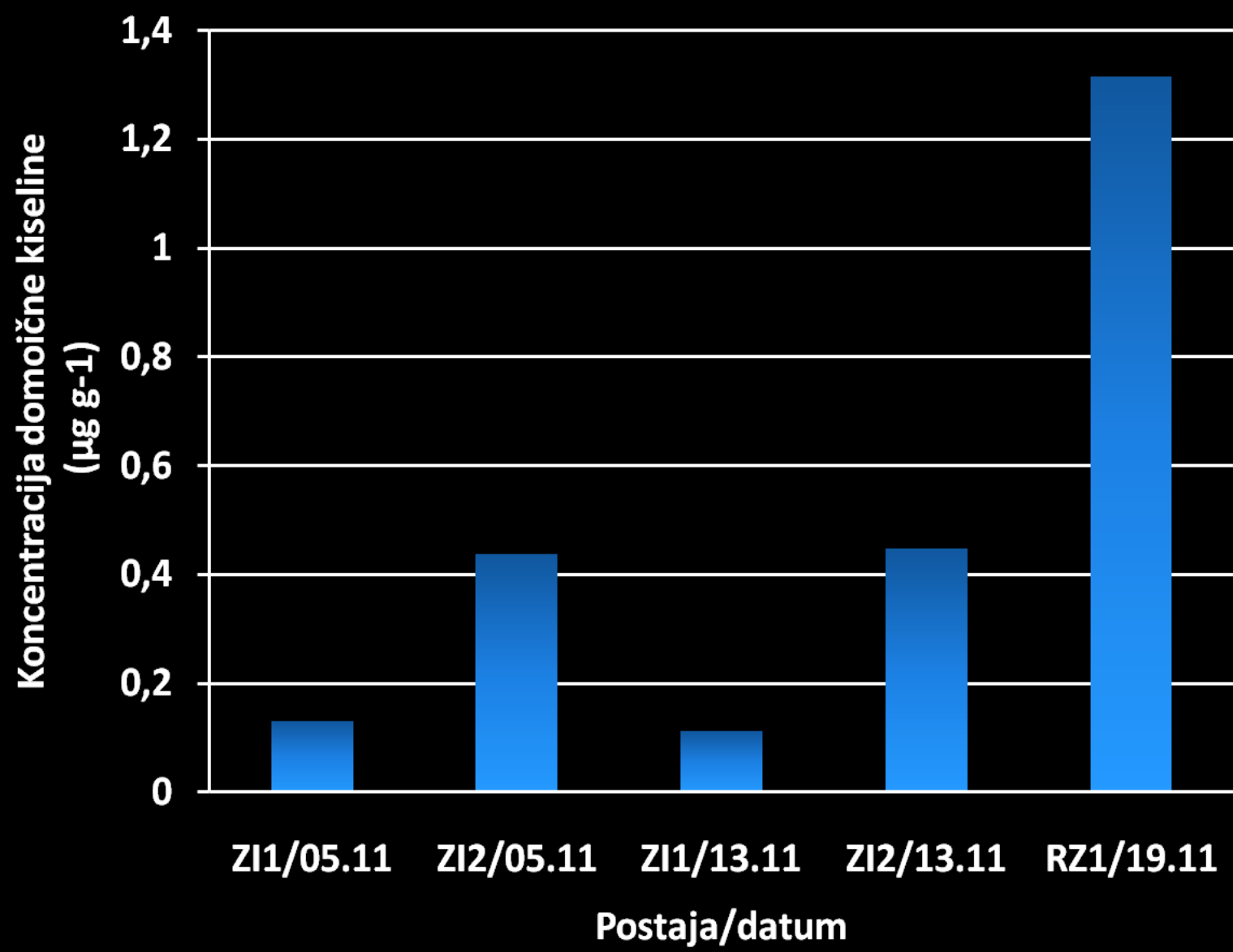
Slika 2. *Pseudo-nitzschia* sp. na svjetlosnom i elektronskom mikroskopu (SEM).



Slika 3. Kolonija *P. callianthe* na svjetlosnom (a) i detalji valve na elektronskom mikroskopu (TEM). Vrh valve (b), velika središnja pora (c), girdle band (d) struktura pora (e).



Slika 4. *P. pungens* na svjetlosnom (a) i elektronskom mikroskopu-TEM (b,c). Kolonija stanica (a), detalji valve s porama (b, c).

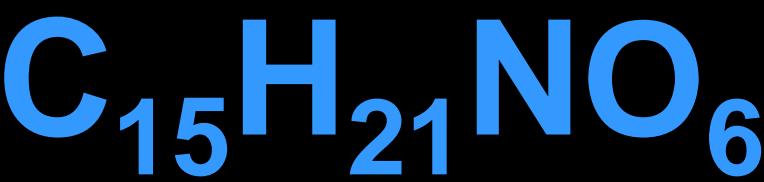


Slika 5. Koncentracije domoične kiseline tijekom cvjetanja *P. callianthe* u sj. Jadranu 2007 godine s datumima i postajama.

ZAHVALA:

Istraživanje je financirano od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa (broj projekta: 098-0982705-2731). Zahvaljujemo kolegici Zrinki Ljubešić na razvoju ideje i potpori pri izradi ovog rada. Zahvaljujem kolegici Ivani Ujević za određivanje domoične kiseline. Zahvaljujemo mentorima dr. Robertu Precaliju i dr. Danilu Degobbisu. Veliko hvala voditelju laboratorija LPEM-a R.P. na financijskoj potpori, te posadi, stručnim suradnicima i znanstvenicima broda Vila Velebita na pomoći pri uzorkovanju.

DOMOIČNA KISELINA



MATERIJALI I METODE:

Kvalitativno i kvantitativno određivanje toksina koji uzrokuju ASP, domoične kiseline i epi-domoične kiseline odredilo se HPLC metodom prema protokolu koji su predložili Quillam i suradnici (1995). Domoična kiselina mjerila se u uzorcima školjkaša sakupljenih iz uzgajališta i prirodnih populacija uz istarsku obalu. Analizirane su vrste: *F. proteus*, *P. jacobaeus*, *O. edulis*, *M. galloprovincialis*. Domoična kiselina određena je UV adsorbicijom na 242 nm

SAKUPLJANJE UZORAKA:

Jednom mjesečno sakupljani su uzorci na brojnim istraživačkim postaja u sjevernom Jadranu. Uzorci morske vode za određivanje koncentracije fitoplanktona i hranjivih soli uzorkovani su Niskinovim crpcima zapremnine 5 litara. Temperatura i salinitet određeni su CTD sondom.

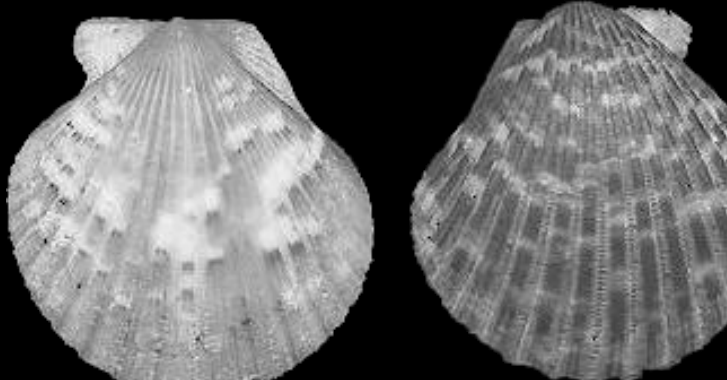
ANALIZA UZORAKA FITOPLANKTONA

Uzorci za analizu fitoplanktona fiksirani su formalinom te analizirani na obrnutom svjetlosnom mikroskopu (Zeiss Axiovert 200). Određena je brojnost i taksonomski sastav fitoplanktonske zajednice metodom prema Utermöhl, 1958. Za detaljna morfološka i taksonomska istraživanja roda *Pseudo-nitzschia* koristila se i elektronska mikroskopija (pretražni elektronski mikroskop -SEM i trasmisijski elektronski mikroskop – TEM). Morfološka mjerenja frustula i usporedba s mjerenjima iz literature obavila se prema metodama predloženim u Lundholm i suradnicima (2003).

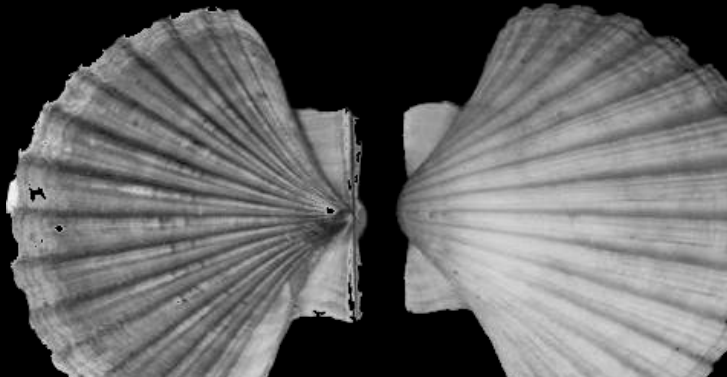


ZANIMLJIVOST:

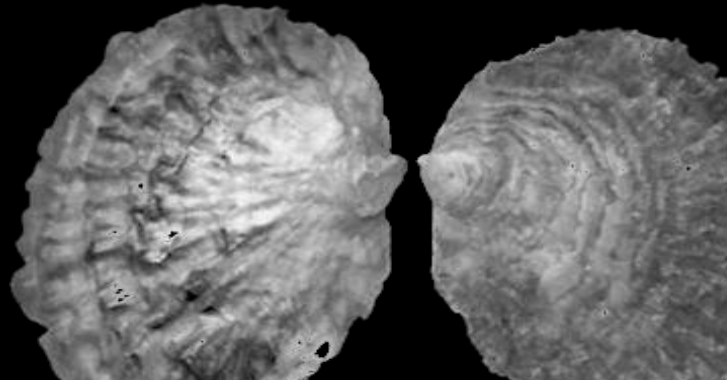
Domoična kiselina povezuje se s još jednom bizarnom pričom. Naime, 1961 u malenom kaliforniskom gradiću Capitolia jato "poludjelih" galebova obrušilo se na gradić i počelo napadati prolaznike. Pretpostavlja se da su ptice bile otrovane domoičnom kiselinom. Vjerovatno je taj događaj inspirirao A. Hitchcocka za snimanje filma "Ptice".



Flexopecten proteus (Z11)



Pecten jacobaeus (Z12)



Ostrea edulis (Z13)



Mytilus galloprovincialis (RZ1)

Slika 6. Vrste školjkaša u kojima je izmjerena domoična kiselina 2007 s pripadajućim postajama.